



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement des Innern EDI
**Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und
Veterinärwesen BLV**
Risikobewertung

Bern, 15. Oktober 2021

Risikobewertung zu *Listeria monocytogenes* in Umgebungsproben

Risikobewertung zu *Listeria monocytogenes* in Umgebungsproben

Inhalt

Zusammenfassung

1. Auftrag	3
1.1 Kontext	3
1.2 Zielsetzung	3
2. Charakterisierung von <i>Listeria monocytogenes</i>	4
3. <i>Listeria monocytogenes</i> in genussfertigen Lebensmitteln	5
3.1 Vorkommen in genussfertigen Lebensmitteln	5
3.2 Infektionsdosis beim Menschen	7
4. Lebensmittelsicherheitskriterium für <i>Listeria monocytogenes</i> in genussfertigen Lebensmitteln	8
4.1 Methodik für den Nachweis in Umgebungsproben	8
4.2 Umgebungsmonitoring als Frühwarnsystem	9
5. Molekulare Typisierung von <i>Listeria monocytogenes</i> -Umgebungsproben	11
5.1 Umgang mit positiven Befunden von Umgebungsproben	11
5.2 Molekulare Typisierung von <i>Listeria monocytogenes</i> aus Lebensmitteln und Umgebungsproben	11
6. Schlussfolgerungen	12
7. Empfehlungen	13
8. Referenzen	13
9. Anhang	16

- Nach aktuellem Stand der Wissenschaft führen vor allem **persistente *L. monocytogenes*-Stämme** in der **Produktionsumgebung** von Herstellerbetrieben zu **Kreuzkontaminationen** mit genussfertigen Lebensmitteln.
- Das **Ziel** eines **effektiven und effizienten Umgebungsmonitorings** auf *L. monocytogenes* ist, die **Reduktion des Kontaminationsrisikos von genussfertigen Lebensmitteln**. In Ergänzung zur Endproduktkontrolle trägt es dazu bei, die **Lebensmittelsicherheit des Produktes zu erhöhen**.
- Für den **Nachweis von *L. monocytogenes* in Umgebungsproben** ist die Referenzmethode «**EN ISO 11290-1**» oder ein gleichwertiges Verfahren anzuwenden, **unter Berücksichtigung des EURL *Lm*-Leitfadens (2012) für die Beprobung von Verarbeitungsbereichen und Ausrüstungsgegenständen**.
- Das **Umgebungsmonitoring** muss als **Frühwarnsystem** auf ***Listerien spp.*** fokussieren.
- Positive ***L. monocytogenes*-Befunde in der Umgebung** sind immer (**mittels WGS**) auf persistente oder transiente Eigenschaften zu **überprüfen**.
- **WGS-Daten von *L. monocytogenes*-Umgebungsisolaten** sind **heute Standard**. Die Sequenzierungsdaten werden benötigt, um **Listeriose-Ausbrüche rechtzeitig zu erkennen** und zu **verhindern**.
- Aufgrund der Häufigkeiten von *L. monocytogenes*-Befunden erscheint ein **Monitoring prioritär (in absteigender Reihenfolge) in Betrieben mit Verarbeitung von Fisch und Fischprodukte** (insbesondere kalt geräucherter Lachs oder Forelle), gefolgt von **Fleisch und Fleischprodukte, Milch und Milchprodukte** (insbesondere Rohmilchkäse) und schliesslich **Geflügelfleisch und Geflügelprodukte** sowie **Gemüse und Früchte** sinnvoll.

1. Auftrag

Die Abteilung RB wird beauftragt, eine Risikobewertung zu *Listeria (L.) monocytogenes* in Umgebungsproben zu verfassen. Diese soll der Abteilung LME als Grundlage für ein weiteres Informationsschreiben betreffend Umgang mit *L. monocytogenes* in Umgebungsproben, d.h. persistierende Keime in Produktionsräumen, dienen.

1.1 Kontext

Erarbeitung einer Anleitung für die praktikable Umsetzung der Anforderungen der HyV bezüglich Umgebungsmonitoring, welches als Frühwarnsystem für *L. monocytogenes* dienen soll, die auf einer Risikobewertung zu *L. monocytogenes* in Umgebungsproben beruht.

Basierend auf der Risikobewertung soll die Abteilung LME die erforderlichen Management-Massnahmen ableiten können, um *L. monocytogenes* in der Lebensmittelkette möglichst früh detektieren zu können. Ausbrüche von Listeriosen sollen dadurch rechtzeitig erkannt und Ausbrüche verhindert werden.

1.2 Zielsetzung

Publizierte Informationen sollen aufzeigen, ob in einem Herstellerbetrieb von genussfertigen Lebensmitteln ein effizientes Listerien-Umgebungsmonitoring, mit Proben aus den Verarbeitungsbereichen und verwendeten Ausrüstungen, das Risiko für eine Kreuzkontamination von genussfertigen Lebensmitteln mit *L. monocytogenes* reduzieren kann.

2. Charakterisierung von *Listeria monocytogenes*

***L. monocytogenes* als Erreger der Listeriose**

Die Spezies *L. monocytogenes* ist der wichtigste Erreger der Listeriose beim Menschen. Die Listeriose ist eine eher seltene lebensmittelbedingte Erkrankung, weist jedoch eine hohe Letalität auf. Eine Infektion verläuft bei gesunden Erwachsenen meist symptomlos und bleibt somit unerkannt. Ein erhöhtes Risiko an Listeriose zu erkranken, besteht vor allem bei Schwangeren, Immungeschwächten und älteren Personen.

Die Übertragung von *L. monocytogenes* auf den Menschen erfolgt durch die Aufnahme von kontaminierten rohen Lebensmitteln vorwiegend tierischer Herkunft (Fleisch-, Fisch- und Milchprodukte), aber auch pflanzlichen Ursprungs (z. B. vorgeschnittene Salate oder Obst). Da die Inkubationszeit der Listeriose bis zu 70 Tage betragen kann, ist es bei einem Krankheitsausbruch oftmals schwierig, die Infektionsquelle (Listerien-kontaminiertes Lebensmittel) zu eruieren. Genussfertige Lebensmittel (sog. ready to eat RTE Lebensmittel) stellen eine besondere Gefahr dar, weil solche Produkte in der Regel vor dem Verzehr keinem Erhitzungsprozess unterzogen werden.

Gemäss dem Bundesamt für Gesundheit BAG werden in der Schweiz jährlich bis zu 80 Listeriose-Fälle gemeldet, wobei die Sterblichkeit der gemeldeten Fällen bis zu 20 % betragen kann¹. Im Jahr 2020 wurden dem BAG 58 Listeriose-Fälle übermittelt, wobei eine hohe Mortalität, vor allem bei älteren Menschen, zu verzeichnen ist ([BLV-Zoonosebericht 2020](#)).

Auch die Daten des EU-One Health-Zoonosenberichtes der EFSA und des ECDC für das Jahr 2019 zeigen eine hohe Sterblichkeitsrate von 17.6 % für bestätigte Listeriose-Fälle auf. Die Anzahl Todesfälle ist im Vergleich zu 2018 um 31 % gestiegen. Die höchste Listeriose-Inzidenz lag bei der Altersgruppe der über 64-Jährigen, vor allem bei den über 84-Jährigen. Unter den lebensmittelassoziierten bakteriellen Infektionen hat die Listeriose in der EU die höchste Letalität (EFSA and ECDC, 2021). Ein Drittel der Listeriose-Fälle ist in der EU, nach Schätzungen der EFSA, auf das Wachstum von *L. monocytogenes* in genussfertigen Lebensmitteln, die im Besitze des Verbrauchers waren, zurückzuführen (EFSA BIOHAZ Panel., 2018).

Die Listeriose-Fälle bei Menschen werden am häufigsten mit den Serotypen 4b, 1/2a und 1/2b (eingeteilt in die Serogruppen IVb, IIa und IIb) in Verbindung gebracht (Orsi *et al.*, 2011). In der Schweiz wurden im Jahr 2020 am häufigsten die Serotypen 4b (64 %) und 1/2a (29 %) nachgewiesen ([BLV-Zoonosebericht 2020](#)).

Eigenschaften von *L. monocytogenes*

L. monocytogenes ist in der Umwelt weit verbreitet, nicht sporenbildend, grampositiv, beweglich und fakultativ anaerob. *L. monocytogenes* können Biofilme bilden und sich bei Kühlschranktemperaturen, hohen Salzkonzentrationen wie auch unter extremen pH-Werten vermehren. Weiter können sie auch Resistenzen gegen Desinfektionsmittel aufweisen. Listerien (*L. monocytogenes*) sind aufgrund ihrer Eigenschaften befähigt, sowohl im Verarbeitungsbereich als auch auf Ausrüstungen von Lebensmittelbetrieben über längere Zeit zu persistieren (COOPER *et al.*, 2020).

Nicht pathogene *Listeria spp.*, wie z. B. *Listeria innocua* und *Listeria welshimeri*, werden in der lebensmittelverarbeitenden Umgebung häufiger nachgewiesen als *L. monocytogenes*. Im Falle von *L. innocua* und *L. welshimeri* gilt zu beachten, dass sie beide Träger von Genen sein können, die für Resistenzen gegenüber Desinfektionsmittel und Schwermetalle kodieren. Die Studie von Katharios-Lanwermeier *et al.* (2012). lässt vermuten, dass nicht pathogene *Listeria spp.* als Reservoir von Resistenzgenen fungieren und diese mittels Konjugation auf andere Listerien, inkl. *L. monocytogenes*, übertragen werden.

¹ Bundesamt für Gesundheit BAG, Stand 23.08.2019: [Listeriose](#)

L. monocytogenes können je nach Umgebung ganz unterschiedliche Virulenzen aufweisen. Inzwischen konnte gezeigt werden, dass hypervirulente Klone eher an den Wirt adaptiert sind und mit hoher Prävalenz in Milchprodukten nachzuweisen sind, während sich hypovirulente Klone besser an die lebensmittelverarbeitende Umgebung adaptiert haben und eher in Fleischprodukten vorzufinden sind (Maury *et al.*, 2019).

3. *Listeria monocytogenes* in genussfertigen Lebensmitteln

3.1 Vorkommen in genussfertigen Lebensmitteln

Lebensmittel im Zusammenhang mit Listeriose-Ausbrüchen

Tabelle 1, Lebensmittelbedingte Ausbrüche von Listeriose in der Schweiz

Jahr	<i>L. monocytogenes</i> Serotyp	erkrankte Personen	Vermutetes kontaminiertes Lebensmittel	Vermutete Ursache
1983 - 1987	4b	122 (davon 33 Todesfälle)	Vacherin Mont d'Or Käse	k. A.
2005	1/2a	k. A.	Käse	k. A.
2011	1/2a	k. A.	Importierter Kochschinken	k. A.
2013/2014	4b	31	Genussfertiger Schnittsalat	Kreuzkontamination im Produktionsbetrieb
2016t	k. A.	6	Fleischpastete	Mängel bei Hygiene und Lagerung
2017	k. A.	2	Salat	Probleme bei der Herstellung
2018	4b	12	Unbekannt, aufgrund von WGS-Daten wird gleiche Lebensmittelquelle vermutet	k. A.
2020	4b	34 (davon 10 Todesfälle)	Weichkäse	Kreuzkontamination im Produktionsbetrieb

Quelle: BLV-Zoonosenberichte mit Daten von 2014 bis 2020² (k. A.= keine Angabe)

Daten aus der EU: Gemäss dem EU-One Health-Zoonosenbericht der EFSA und des ECDC konnten in der EU im Jahr 2019 neun «strong-evidence» und 12 «weak-evidence» lebensmittelbedingte Krankheitsausbrüche mit *L. monocytogenes* in Verbindung gebracht werden. Sechs der neun «strong-evidence» Ausbrüche waren auf genussfertige Lebensmittel zurückzuführen. Es handelt sich hierbei um Fleisch und Fleischprodukte (drei Ausbrüche), Masthähnchenfleisch und Produkte davon (zwei Ausbrüche) sowie um je einen Ausbruch aufgrund von «mixed food», «Gemüse, Säfte und andere Produkte» sowie Rindfleisch bzw. Schweinefleisch und Produkte davon. Zwischen 2010 und 2018 wurden die Lebensmittelmatrizen «mixed food», Fisch und Fischprodukte sowie «Gemüse, Säfte und Produkte davon» am häufigsten mit Listeriose-Ausbrüchen in Verbindung gebracht (EFSA and ECDC, 2021).

Nennenswert ist der länderübergreifende Listeriose-Ausbruch in der EU zwischen 2015 und 2018 in Zusammenhang mit blanchiertem Tiefkühlgemüse. In einem EFSA-Gutachten von 2020 wird auf die gesundheitlichen Risiken beim Verzehr von rohem blanchiertem Tiefkühlgemüse (industrielle Produkte) hingewiesen. Auch wurde das Umgebungsmonitoring als kritischer Punkt im Herstellungsprozess dieser Produkte identifiziert (EFSA BIOHAZ Panel., 2020).

² [Überwachung von Zoonosen \(BLV\)](#)

Die RASFF-Meldungen zwischen 2017 bis 2020³ betreffend *L. monocytogenes* beinhalteten vor allem genussfertige Lebensmittel wie Fisch und Fischprodukte (insbesondere kalt geräucherter Lachs oder Forelle), gefolgt von Fleisch und Fleischprodukte (ausser Geflügel), Milch und Milchprodukte (insbesondere Rohmilchkäse) und schliesslich Geflügelfleisch und Geflügelprodukte (in absteigender Häufigkeit). Zu bemerken ist, dass in diesem Zeitraum auch immer wieder Meldungen über länderübergreifende Listeriose-Ausbrüche im Zusammenhang mit Tiefkühlgemüse auftauchen.

Daten aus den USA: Gemäss Angaben der US-amerikanischen Behörde «Centers for Disease Control and Prevention (CDC)»⁴ waren in den USA die ersten Listeriose-Ausbrüche in den 1990er-Jahren auf «deli meats» und Hotdogs zurückzuführen. Inzwischen werden Lebensmittel wie Milchprodukte, Obst und Gemüse für Listeriose-Ausbrüche verantwortlich gemacht. Als Kontaminationsquellen für die letzten Ausbrüche wurden jedoch folgende Lebensmittel identifiziert: Weichkäse, Sellerie, Sprossen, Zuckermelonen und Speiseeis.

Lebensmittelmonitoring

Infektionen mit *L. monocytogenes* können auf verschiedenen Stufen der Lebensmittelkette erfolgen.

Überwachung in Milchprodukten (2007-2020): In der Schweiz wurden zwischen 2007 und 2020 für die Überwachung von Milchprodukten, im Rahmen des Listerien-Monitoring-Programmes (LMP) von Agroscope, jährlich 710 bis 5200 Proben (Käse, Milch und Umgebung) auf Listerien untersucht. *L. monocytogenes* wurde stets in weniger als 1% der Proben nachgewiesen, meistens in Umgebungsproben. Bei positiven Käseproben war der Erreger in der Regel nur auf der Käseoberfläche zu finden. Die Monitoring-Daten von Agroscope für das Jahr 2020 zeigen auf, dass in 2.4 % der 710 untersuchten Käse-, Milch- und Umgebungsproben Listerien nachgewiesen werden konnten. Von den 17 Listerien-kontaminierten Proben waren drei *L. monocytogenes* positiv. In den restlichen 14 Proben wurden andere Listerien-Arten nachgewiesen ([BLV-Zoonosebericht 2020](#)). Bei den drei *L. monocytogenes*-positiven Proben aus dem Jahre 2020 handelt es sich um Umgebungsproben (pers. Mitteilung, Agroscope). Weiter gilt es noch zu präzisieren, dass Agroscope die Untersuchungen jeweils im Auftrag des Betriebes durchführt. Sie sind also nicht notwendigerweise risikobasiert.

Überwachung in Convenience-Produkten (2018): In einer gemeinsamen Kampagne haben die Kantonschemiker der Schweiz im Jahr 2018 1000 Proben verzehrsfertiger Fertigsalate, Früchte, Feinkostsalate, Antipasti und andere Convenience-Produkte auf vorwiegend pflanzlicher Basis vom Schweizer Markt erhoben und auf *L. monocytogenes* untersucht. Knapp 3 % der Proben waren positiv auf *L. monocytogenes*, die Keimzahl lag jedoch immer unter dem Grenzwert ([BLV-Zoonosebericht 2018](#)). Gemäss Anhang 1 Teil 1 Ziff. 1.2 und 1.3 der Hygieneverordnung (HyV)⁵ darf bei in Verkehr gebrachten Erzeugnissen der Lebensmittelkategorien 1.2 und 1.3 während der gesamten Haltbarkeitsdauer der Grenzwert von 100 KBE/g nicht überschritten werden.

Überwachung in Fleischprodukten (2019): Im Auftrag des BLV testete Agroscope im Jahr 2019 im Rahmen eines Projektes Schweizer Fleischprodukte. Insgesamt wurden 201 Proben auf Listerien untersucht. In drei der Proben wurden *L. monocytogenes* gefunden (1.5 %), jedoch nie über dem Grenzwert von 100 KBE/g. In zwei anderen Proben konnten andere Listerien nachgewiesen werden ([BLV-Zoonosebericht 2019](#)).

Überwachung von geräuchertem Fisch (2020): Im Jahr 2020 führte das BLV, in Zusammenarbeit mit dem «Office de la consommation du canton de Vaud», eine Risikobewertung der Lebensmittelsicherheit von geräuchertem Fisch durch⁶. Bei den Krankheitserregern, die geräucherter Fisch enthalten kann, handelt es sich hauptsächlich um *L. monocytogenes*, Im Rahmen dieser Pilotstudie konnte auf-

³ [Reports and publications RASFF](#)

⁴ [Prevention | Listeria | CDC](#) (Homepage CDC, Stand 01.09.2021)

⁵ Verordnung des EDI über die Hygiene beim Umgang mit Lebensmitteln ([SR 817.024.1](#))

⁶ siehe Bericht «[Evaluations der Risiken von geräuchertem Fisch – Inspektionen und Analysen](#)» (Homepage BLV [Bakterien](#) unter «weitere Informationen»)

gezeigt werden, dass geräucherter Fisch für die Konsumenten mit Risiken verbunden ist, insbesondere aus mikrobiologischer Sicht. Von den 46 analysierten Proben erfüllen 8 Proben (17 %) die Anforderungen an die mikrobiologische Qualität nicht, 2 Proben (4 %) davon (aus Produktionsbetrieben) waren mit *L. monocytogenes* kontaminiert.

Überwachung von Lebensmittelbetrieben (2021): In einer Inspektionskampagne des VKCS wurde im Jahr 2021 überprüft, was die Lebensmittelbetriebe im Rahmen ihrer Selbstkontrolle in Bezug auf das Lebensmittelsicherheitskriterium für *L. monocytogenes* in genussfertigen Lebensmitteln unternehmen. Ergebnisse dieser Inspektionskampagne liegen noch nicht vor (Stand Oktober 2021).

Listerien-Monitoring entlang der Lebensmittelkette (EU-Daten von 2019): In der EU überwachen die zuständigen Behörden die korrekte Umsetzung des Lebensmittelsicherheitskriteriums für *L. monocytogenes* in genussfertigen Lebensmitteln indem sie amtliche Probenahmen in entsprechenden Produktionsbetrieben (Rohmaterialien, Produkte und Umgebung) und im Einzelhandel durchführen. Die Monitoring-Daten der EU-Mitgliedstaaten werden von der EFSA ausgewertet und jährlich im EU-One Health-Zoonosenbericht publiziert. Auch im Jahr 2019 war der Anteil an *L. monocytogenes*-positiven Befunden im Einzelhandel gering und betrug maximal 2.1 % (fermentierte Fleischprodukte). Im Produktionsbereich war die höchste Positivitätsrate mit 5.8 % wieder den genussfertigen Fischprodukten zuzuschreiben. Wie in den Jahren zuvor ist der Anteil positiver Proben in der Verarbeitung gegenüber dem Einzelhandel systematisch erhöht (EFSA and ECDC, 2021). Es handelt sich hier jedoch nicht um repräsentative Zahlen, denn nicht jede Lebensmittelmatrix wurde gleich häufig beprobt, auch waren die Anzahl Proben pro Mitgliedstaat unterschiedlich.

Zusammenfassend kann zu den **Listerien-Monitoring-Daten** folgendes gesagt werden:

- Die Listerien-Monitoring-Daten aus der **Schweiz** und der **EU** über **genussfertige Lebensmittel im Einzelhandel** weisen einen **geringen Anteil an *L. monocytogenes*-positiven Befunden** auf. Dieser liegt bei **unter 5 %**.
- Im Jahr **2020** wurden in der **Schweiz** im Rahmen einer **Pilotstudie** (Kanton Waadt) in zwei **Produktionsbetrieben** je eine ***L. monocytogenes*-positive Probe von geräuchertem Fisch (2/46)** identifiziert. Für das gleiche Jahr wies Agroscope im Rahmen des **LMPs drei *L. monocytogenes*-positive Umgebungsproben (3/17)** nach.
- Die **RASFF-Daten** der **letzten Jahre** bezüglich *L. monocytogenes*-Kontaminationen von genussfertigen Lebensmitteln lassen vermuten, dass insbesondere die Herstellung von genussfertigen Fischprodukten (**kalt geräucherter Lachs oder Forelle**) **kritisch** sein könnte.

3.2 Infektionsdosis beim Menschen

Die genaue Infektionsdosis ist nicht bekannt. Die Anzahl Keime, die für eine Erkrankung notwendig sind, scheint jedoch von der Virulenz des Bakterienstammes und der Empfindlichkeit der erkrankten Person abzuhängen⁷.

Laut Schätzungen der EFSA ist bei mehr als 90 % der invasiven Listeriose-Fälle von einer Aufnahme genussfertiger Lebensmittel auszugehen, die mit mehr als 2000 KBE (koloniebildende Einheiten) pro Gramm Lebensmittel kontaminiert waren (EFSA BIOHAZ Panel, 2018).

⁷ [Erkrankung durch Listerien in Lebensmitteln](#) (Homepage LGL, Stand 01.09.2021)

4. Lebensmittelsicherheitskriterium für *Listeria monocytogenes* in genussfertigen Lebensmitteln

4.1 Methodik für den Nachweis in Umgebungsproben

Rechtsgrundlagen mit Erläuterungen

Lebensmittelbetriebe, die genussfertige Lebensmittel herstellen, die ein durch *L. monocytogenes* verursachtes Risiko für die menschliche Gesundheit bergen könnten, sind gemäss Artikel 69 Absatz 2 HyV verpflichtet, im Rahmen ihres Probenahmeplans auch Proben aus den Verarbeitungsbereichen und den verwendeten Ausrüstungen auf *L. monocytogenes* zu untersuchen. Bei einem positiven Nachweis aus dem Umgebungsmonitoring, hat die verantwortliche Person eines Betriebes die im Rahmen der Selbstkontrolle festgelegten Korrekturmassnahmen einzuleiten.

Gemäss Artikel 70 HyV sind bei mikrobiologischen Untersuchungen die Ereignisse mittels Trendanalysen zu studieren. Die Auswertungen von Trendanalysen können Hinweise geben, wo, wie und wann Kontaminationen stattgefunden haben könnten und ob die eingeleiteten Massnahmen auch Wirkung zeigen. Bewegt sich ein Trend auf unbefriedigende Resultate zu, sind unverzüglich geeignete Massnahmen zu treffen, damit mikrobiologische Gefahren verhindert werden können.

Gemäss [Informationsschreiben 2020/7](#) des BLV ist bei einem Listerien-Befund im Betrieb immer abzuklären, ob es sich um einen persistenten Stamm handelt oder ob der Keim immer wieder neu in den Betrieb eingeführt wurde. Zur genauen Bestimmung des Stammes sollten deshalb nachgewiesene *L. monocytogenes*-Isolate auch einer molekularen Typisierung unterzogen werden. Bei wiederholt positiven Nachweisen von *L. monocytogenes* in Umgebungsproben soll, gemäss [Informationsschreiben 2020/7](#) des BLV, die zuständige kantonale Vollzugsbehörde einbezogen werden, um weitere Massnahmen festzulegen.

Für Probenahmen in den Verarbeitungsbereichen und bei den verwendeten Ausrüstungen ist gemäss Artikel 69 Absatz 1 HyV die «SN EN ISO 18593, 2018» als Referenzverfahren zu nehmen. Diese Internationale Norm legt ein horizontales Verfahren für Probenahmetechniken von Oberflächen mittels Abklatschplatten, Stieltupfer, Schwamm und Tuch an Oberflächen in der Umgebung der Lebensmittelkette fest, um kulturfähige Mikroorganismen nachzuweisen oder zu zählen. Von Fachexperten wird für den Nachweis von *L. monocytogenes* die Referenzmethode «SN EN ISO 18593, 2018» jedoch als zu wenig spezifisch erachtet (Carpentier and Barre, 2012).

Aus diesem Grund erarbeitete das EURL *Lm* im Jahr 2012 Handlungsempfehlungen für die Beprobung von Verarbeitungsbereichen und Ausrüstungsgegenständen. Der EURL *Lm*-Leitfaden empfiehlt für das Umgebungsmonitoring von *L. monocytogenes* Wischprobenahmen (*wipe sampling methods: swab and sponge/cloth method*), die Analyse der gesammelten Umgebungsproben soll gemäss «EN ISO 11290-1» oder einem gleichwertigen Verfahren erfolgen. Dieses horizontale Verfahren ermöglicht den Nachweis und die Zählung von insgesamt zehn *Listeria spp.* (inkl. *L. monocytogenes*). Der Leitfaden enthält auch zahlreiche Tipps über die Beprobungsflächengrösse, die kritischen Orte im Verarbeitungsbereich sowie zum optimalen Zeitpunkt für Probenahmen. Die Anzahl Proben und Probenahmen innerhalb eines bestimmten Zeitraumes werden nicht spezifiziert und sind von Fall-zu-Fall mittels eines risikobasierten Ansatzes zu bestimmen (Carpentier and Barre, 2012).

Im EURL *Lm*-Dokument beschränken sich die Empfehlungen zum Listerien-Nachweis, aufgrund der gesetzlichen Vorgaben der Verordnung EG 2073/2005, nur auf *L. monocytogenes*. Die Autorinnen verweisen jedoch auf eine Empfehlung des Codex Alimentarius (2007), für ein effektives Listerien-Monitoringprogramm die Untersuchung nicht nur auf *L. monocytogenes* zu fokussieren, sondern auch nicht pathogene *Listeria spp.* einzubeziehen. Die Anwesenheit von nicht pathogenen Listerien-Arten in der Produktionsumgebung könne ein guter Indikator für die potentielle Anwesenheit von *L. monocytogenes* sein.

Zusammenfassend kann zur **Methodik des Umgebungsmonitorings auf *L. monocytogenes*** folgendes gesagt werden:

- Ein **Lebensmittelbetrieb**, welcher genussfertige Lebensmittel herstellt, die ein durch *L. monocytogenes* verursachtes Risiko für die menschliche Gesundheit bergen könnten, sollte bei der **Durchführung eines Umgebungsmonitorings** für den **Nachweis von *L. monocytogenes* in Umgebungsproben** die **Referenzmethode «EN ISO 11290-1»** oder ein gleichwertiges Verfahren anwenden, wobei die **Empfehlungen des EURL *Lm*-Leitfadens für die Beprobung von Verarbeitungsbereichen und Ausrüstungsgegenständen (2012)** zu **berücksichtigen** sind .

4.2 Umgebungsmonitoring als Frühwarnsystem

Nach aktuellem Stand der Wissenschaft führen vor allem persistente *L. monocytogenes*-Stämme in der Produktionsumgebung von Herstellerbetrieben zu Kreuzkontaminationen mit genussfertigen Lebensmitteln. Die Ursache dieser Persistenz wird zurückgeführt auf die Adaptationsfähigkeit von *L. monocytogenes* an extreme Bedingungen, z. B. durch die Bildung von Biofilmen, und ungenügende Hygienezustände in der Produktionsumgebung (EFSA BIOHAZ Panel., 2018). Die Hersteller von genussfertigen Lebensmitteln sollten deshalb sehr daran interessiert sein, durch ein effektives risikobasiertes Umgebungsmonitoring-Programm *L. monocytogenes*-Kontaminationen (insbesondere persistente Keime) in ihrem Betrieb zu identifizieren und zu eliminieren.

Leitfäden und Empfehlungen für ein Umgebungsmonitoring

Das Ziel eines effektiven und effizienten Umgebungsmonitorings auf *L. monocytogenes* ist die Reduktion des Kontaminationsrisikos von genussfertigen Lebensmitteln mit *L. monocytogenes*. In Ergänzung zur Endproduktkontrolle trägt die Durchführung eines Umgebungsmonitorings dazu bei, die Lebensmittelsicherheit eines genussfertigen Lebensmittels zu erhöhen.

Umfasst das Umgebungsmonitoring sowohl nicht pathogene *Listeria spp.* als auch *L. monocytogenes*, sollte ein positiver Befund von nicht pathogenen Listerien-Arten als Frühwarnung vor *L. monocytogenes* gedeutet werden. Der Lebensmittelbetrieb hat dann die Möglichkeit, entsprechende Massnahmen einzuleiten, bevor *L. monocytogenes* zu einem Problem wird (Spanu and Jordan, 2020).

Hilfreiche Leitfäden zur Kontrolle von *L. monocytogenes* in genussfertigen Lebensmitteln für die Lebensmittelindustrie wurden unter anderem von der FDA (siehe [FDA](#), 2017) und von der australischen Nationalbehörde FSANZ (siehe: [FSANZ](#) , 2014 sowie [FSANZ, supporting document 1](#) , 201x) erstellt. Die australische Lebensmittelbehörde NSW Food Authority publizierte zudem einen detaillierten *L. monocytogenes*-Umgebungsmonitoring-Leitfaden (siehe: [NSW Food Authority](#), 2019). Im Jahr 2018 publizierte die EFSA Empfehlungen für ein spezifisches Umgebungsmonitoring in Herstellerbetrieben von Tiefkühlgemüse (EFSA, 2018).

Weiter zeigen wissenschaftliche Publikationen auf, welche Elemente bei der Erstellung eines Listerien-Umgebungsmonitoring-Plans von Bedeutung sein könnten (De Oliveira Mota *et al.*, 2021, MAGDOVITZ *et al.*, 2019, Spanu and Jordan, 2020). Der Review-Artikel von Spanu und Jordan (2020) beinhaltet bspw. diverse Bausteine für ein effektives Listerien-Umgebungsmonitoring.. Eine hilfreiche Übersicht zu risikobasierten Probenahmestellen ist im wissenschaftlichen Artikel von Simons und Wiedmann (2018) zu finden.

Die Frage nach der Effizienz eines Monitorings auf *L. monocytogenes* stellt sich spätestens dann, wenn negative Befunde zum Standard werden. Gemäss EURL *Lm*-Leitfaden von 2012 können falsch durchgeführte oder ineffektive Probenahmetechniken der Grund für nicht nachgewiesene Listerien sein.

Umgebungsmonitorings in Herstellerbetrieben

Der Scoping Review von Zoellner *et al.* (2018) zeigt unter anderem auf, dass wissenschaftliche Publikationen zum Thema Listerien-Umgebungsmonitoring vor allem die Lebensmittelsektoren Fleisch, Milch und Fisch betreffen, untervertreten ist der Bereich «fresh produce».

Im Anhang (Abschnitt 9) werden sieben Fallbeispiele von Listerien-Umgebungsmonitorings in verschiedenen Herstellerbetrieben aufgezeigt und kurz erläutert. Folgende Erkenntnisse lassen sich daraus ableiten:

- Listerien kommen ubiquitär vor, jeder Lebensmittelbetrieb hat jeden Tag mit einem Eintrag zu rechnen. Das Risiko für die Bildung von persistenten Keimen im Verarbeitungsbereich kann minimiert werden, wenn die Hygienevorschriften in der Produktionsumgebung eingehalten und überwacht werden.
- Bei der Bekämpfung von persistenten *L. monocytogenes*-Stämmen sollten die vorgesehenen Massnahmen immer auch auf die molekularen Eigenschaften (z. B. Resistenzen) des Keimes abgestimmt sein.
- Listeriose-Ausbrüche in Zusammenhang mit kontaminierten Lebensmitteln lassen sich im Normalfall immer auf eine *L. monocytogenes*-Kontamination der Produktionsumgebung des Herstellerbetriebes zurückführen.
- Die molekulare Typisierung (mittels WGS) von *L. monocytogenes*-Isolaten aus Umgebungsproben ermöglicht es Betrieben und Behörden, bei ordentlichen Kontrollen wie auch bei Ausbruchsabklärungen, die Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den Isolaten zu erkennen.
- Eine WGS-Datenbank hat auch zum Ziel, molekulare Sequenzierungsdaten zur Verfügung zu stellen, um die Aufklärung von (sporadischen) Listeriose-Fällen retrospektiv wie auch prospektiv zu fördern («improve surveillance and early detection of outbreaks»).
- Bei einer molekularen Typisierung (mittels WGS) von *L. monocytogenes*-Umgebungsisolaten verschiedener Herstellerbetriebe kann sich die Behörde einen Überblick über die molekularen Eigenschaften dieser problematischen Stämme verschaffen.

Rolle von Umgebungsproben für Ausbruchsabklärungen

Die Selbstkontrolle eines Lebensmittelbetriebes wird im Rahmen einer Inspektion durch die zuständige kantonale Vollzugsbehörde überprüft. In Anlehnung an die Publikation über den schweizweiten Ausbruch von Listeriose im Zusammenhang mit Weichkäse von 2020 (Nüesch-Inderbinnen *et al.*, 2021), ist davon auszugehen, dass in der Schweiz routinemässige Lebensmittelsicherheitskontrollen keine Genomsequenzierung von *L. monocytogenes*-Isolaten aus Umgebungsproben beinhalten.

Literaturrecherchen haben ergeben, dass es ausländische Behörden gibt, die bei einer Ausbruchsabklärung WGS-Daten von *L. monocytogenes*-Umgebungsproben standardmässig miteinbeziehen. Dieses Vorgehen hat sich bspw. in den USA seit 2013 (Stevens *et al.*, 2017), in Österreich seit 2016 (Cabal *et al.*, 2019) und in Deutschland seit 2020 (Beneke *et al.*, 2021) etabliert und bewährt.

Die WGS-Daten von *L. monocytogenes*-Isolaten aus Patienten-, Lebensmittel- und Umgebungsproben können bei einem Ausbruchsgeschehen mittels eines Listeriose-Clusters den involvierten *L. monocytogenes*-Stämmen zugeordnet werden, sofern eine Übereinstimmung besteht. Auf diese Weise können ursächliche Kontaminationsquellen (Produkt und Betrieb) zeitnah identifiziert werden.

Weitergehende Erkenntnisse in verschiedenen Ländern:

- Die Umgebungsproben in den USA und in Deutschland stammen aus amtlichen und ordentlichen Kontrollen (Beneke *et al.*, 2021; Stevens *et al.*, 2017).
- In Österreich sind seit 2014 mikrobiologische Untersuchungslabore (öffentliche und private) wie auch Lebensmittelbetriebe verpflichtet, alle *L. monocytogenes*-Isolate aus Human-, Lebensmittel- und Umgebungsproben ans NRL weiterzuleiten. Dieses führt seit 2016 die molekulare Typisierung (WGS) der entsprechenden Isolate durch (Cabal *et al.*, 2019).
- In den USA konnten durch diese «Echtzeit-Überwachung» der Listeriose-Fälle, basierend auf WGS-Daten von *L. monocytogenes*-Isolaten aus Monitoring-Programmen (Lebensmittel- und Umgebungsproben), deutlich mehr Listeriose-Cluster identifiziert werden. Durch dieses neue Vorgehen konnte der Median von sechs auf drei Fälle pro Ausbruch reduziert werden (Jackson *et al.*, 2016)
- In einer europäischen Studie wurden Listeriose-Ausbrüche retrospektiv anhand der verfügbaren WGS-Daten ausgewertet. Es konnte aufgezeigt werden, dass bei einer zentralen Ablage der WGS-Daten, die länderübergreifenden Listeriose-Cluster im Durchschnitt mehrere Monate früher erkannt wurden (Van Walle *et al.*, 2018).
- Laut BfR⁸ konnten in Deutschland bisher 38 Listeriose-Cluster dank *L. monocytogenes*-Isolaten aus Lebensmittel und Produktionsumgebungen gematched werden.

5. Molekulare Typisierung von *Listeria monocytogenes*-Umgebungsproben

5.1 Umgang mit positiven Befunden von Umgebungsproben

Wissenschaftliche Publikationen über WGS-Daten von positiven Umgebungsproben, welche direkt mit Daten von Patientenisolaten in Verbindung gebracht werden konnten, sind zurzeit kaum auffindbar. Es ist jedoch von solchen Ereignissen auszugehen, wie das Paper von Allard *et al.* (Allard *et al.*, 2019) aufzeigt: Im Jahr 2018 konnten in den USA mit Hilfe von WGS-Daten Patientenisolat von Listeriose-Fällen mit einem *L. monocytogenes*-Isolat aus der Produktionsumgebung (amtliche Probe durch die FDA) eines Herstellerbetriebes von Eiscreme in Verbindung gebracht werden. (Für weitere Details siehe Abschnitt 9. Anhang, Fallbeispiel 3).

Ein weiterer Fall aus den USA zeigt auf, wie positive Befunde auf nicht pathogene *Listeria spp.* aus amtlich erhobenen Umgebungsproben (FDA) vom Käsehersteller nicht als Frühwarnung wahrgenommen wurden, was acht Monate später zu einem Rückruf der gesamten Produktpalette dieses Herstellbetriebes führte ([Food Safety News 2021](#)). (Für weitere Details siehe Abschnitt 9. Anhang, Fallbeispiel 2)

5.2 Molekulare Typisierung von *Listeria monocytogenes* aus Lebensmitteln und Umgebungsproben

Das von der EFSA in Auftrag gegebene Projekt "Closing gaps for performing a risk assessment on *L. monocytogenes* in RTE foods: activity 3» hatte einerseits zum Ziel, eine molekulare Charakterisierung von *L. monocytogenes*-Isolaten aus verschiedenen Quellen mittels WGS durchzuführen und andererseits, die genetische Vielfalt der Isolate innerhalb der Lebensmittelkette wie auch zwischen Lebensmittelkette und Humanproben genauer zu untersuchen. Hierfür wurden insgesamt 1143 *L. monocytogenes*-Isolate (333 klinische Humanisolate und 810 Isolate aus der Lebensmittelkette) ausgewählt. (Nielsen *et al.*, 2017).

⁸ [WGS -basierte Typisierung von Listerien am BfR; Präsentation vom 16.11.2020 Stefanie Lüth](#)

Der Bericht enthält unter anderem WGS-Daten über *L. monocytogenes*-Isolate, die von «food products» oder aus «food processing environment» stammen. Der genaue Ursprung des Isolates (Milch-, Fleisch- oder Fischprodukte) ist jeweils aufgeführt, inklusive Angaben zum identifizierten MLST Clonal Complex CC und MLST Sequence Type ST. Die Studie zeigt, dass *L. monocytogenes* aus Umgebungsproben und deren molekularbiologische Typisierung bei der Aufklärung von Ausbrüchen, wie auch bei der Identifikation von persistierenden *L. monocytogenes* eine wichtige Rolle spielen.

6. Schlussfolgerungen

Umgebungsmonitoring, Methodik:

- Ein effektives risikobasiertes Listerien-Umgebungsmonitoring reduziert das Kontaminationsrisiko von genussfertigen Lebensmitteln mit *L. monocytogenes*. Zudem erhöht es, in Ergänzung zur Endproduktkontrolle, die Lebensmittelsicherheit des genussfertigen Lebensmittels. Eine regelmässige Überprüfung des Umgebungsmonitoring-Plans ermöglicht es, neue potentielle Infektionsquellen zu identifizieren.
- Ein Umgebungsmonitoring auf *Listeria spp.* ist vorzuziehen, da nicht pathogene Listerien-Arten ein Indikator für die potentielle Anwesenheit von *L. monocytogenes* sein können.
- Der Nachweis von *L. monocytogenes* mit der Referenzmethode «SN EN ISO 18593, 2018» ist gemäss EURL *Lm* zu wenig spezifisch, deshalb ist die Referenzmethode «EN ISO 11290-1» oder ein gleichwertiges Verfahren für die Analyse vorzuziehen. Ergänzend dazu ist der EURL *Lm*-Leitfaden von 2012 für die Beprobung von Verarbeitungsbereichen und Ausrüstungsgegenständen zu verwenden. Alternativen finden sich bspw. im Leitfaden der australischen Lebensmittelbehörde NSW Food Authority von 2019.
- Bei positiven Befunden ist immer abzuklären, ob der Stamm transient oder persistent ist, eine molekulare Typisierung (WGS) ist deshalb erforderlich. Es ist zu überprüfen, ob vorgesehene Massnahmen zur Bekämpfung sinnvoll sind, da der Stamm Resistenzen aufweisen könnte. Persistente Keime sind zu eliminieren, da ihre Anwesenheit das Risiko für Kreuzkontaminationen erhöht.
- Bei negativen Befunden ist immer abzuklären, ob die Probenahme falsch durchgeführt wird oder ineffektiv ist.

Priorisierung der vulnerablen Betriebe:

- Ein Monitoring prioritär (in absteigender Reihenfolge) in Betrieben mit Verarbeitung von Fisch und Fischprodukte (insbesondere kalt geräucherter Lachs oder Forelle), gefolgt von Fleisch und Fleischprodukte, Milch und Milchprodukte (insbesondere Rohmilchkäse) und schliesslich Geflügelfleisch und Geflügelprodukte sowie Gemüse und Früchte erscheint sinnvoll.

WGS-Daten von positiven Umgebungsproben:

- Das WGS ist ein sehr effektives Tool, um lebensmittelbedingte Krankheitsausbrüche wie Listeriose früh zu erkennen und geeignete Massnahmen zu ergreifen.
- Ausländische Behörden überprüfen regelmässig im Rahmen einer Inspektion die Umgebung eines Lebensmittelbetriebes mittels amtlicher Proben. Positive Befunde durchlaufen eine WGS-Analyse, entsprechende Daten werden in einer Datenbank gespeichert und regelmässig mit WGS-Daten von Human- und Lebensmittelproben verglichen.
- In der Schweiz fehlt die rechtliche Basis, privatrechtliche Proben zu erfassen. Es besteht jedoch die Möglichkeit, dass zuständige Behörden im Rahmen ihrer Inspektionen bei der Überprüfung der Selbstkontrolle nicht nur die Unterlagen betr. Umgebungsmonitoring überprüfen, sondern gleichzeitig auch eine amtliche Probenahme aus der Umgebung durchführen.

7. Empfehlungen

1. WGS-Daten positiver Proben aus Umgebungsmonitorings sind heute Standard geworden und bei der Aufklärung von (sporadischen) Listeriose-Fällen kaum wegzudenken. Eine mögliche Variante für die Schweiz wäre, dass die zuständigen Behörden im Rahmen ihrer Inspektionen ein solches Monitoring standardmässig durchführen.
2. Positive *L. monocytogenes*-Befunde sind mittels WGS zu analysieren und in einer Datenbank zentral abzulegen. In Deutschland findet ein regelmässiger Austausch statt zwischen BfR und RKI. In Österreich findet der Vergleich der Isolate in einer einzigen Behörde statt. Ein Abgleich von *L. monocytogenes*-Isolaten von Patienten, Lebensmitteln und Umgebungsproben erscheint zwingend, um implizierte Lebensmittel und Betriebe identifizieren und für weitergehende Untersuchungen verfügbar machen zu können.

8. Referenzen

Allard, MW, Strain, E, Rand, H, Melka, D, Correll, WA, Hintz, L, Stevens, E, Timme, R, Lomonaco, S, Chen, Y, Musser, SM and Brown, EW (2019). "Whole genome sequencing uses for foodborne contamination and compliance: Discovery of an emerging contamination event in an ice cream facility using whole genome sequencing." *Infection, Genetics and Evolution* **73**: 214-220.

Alvarez-Molina, A, Cobo-Díaz, JF, López, M, Prieto, M, de Toro, M and Alvarez-Ordóñez, A (2021). "Unraveling the emergence and population diversity of *Listeria monocytogenes* in a newly built meat facility through whole genome sequencing." *Int J Food Microbiol* **340**: 109043.

Beneke, B., Näther, G., Reuber, S., und Petersen, H. (2021). Next Generation Sequencing (NGS) von *Listerien*-Isolaten aus fleischverarbeitenden Betrieben. *Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle*, 28. Jahrgang – 2/2021, 84-89

Blatter, S, Giezendanner, N, Stephan, R and Zweifel, C (2010). "Phenotypic and molecular typing of *Listeria monocytogenes* isolated from the processing environment and products of a sandwich-producing plant." *Food Control* **21**(11): 1519-1523.

Cabal, A, Pietzka, A, Huhulescu, S, Allerberger, F, Ruppitsch, W and Schmid, D (2019). "Isolate-Based Surveillance of *Listeria monocytogenes* by Whole Genome Sequencing in Austria." *Frontiers in Microbiology* **10**(2282).

Carpentier, B. and Barre, L. (2012), Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of *Listeria monocytogenes*, *EURL for Listeria monocytogenes, Maisons-Alfort Laboratory for Food Safety, ANSES, France*. Retrieved on: <https://eurl-listeria.anses.fr>

Centorotola, G, Guidi, F, D'Aurizio, G, Salini, R, Di Domenico, M, Ottaviani, D, Petruzzelli, A, Fisichella, S, Duranti, A, Tonucci, F, Acciari, VA, Torresi, M, Pomilio, F and Blasi, G (2021). "Intensive Environmental Surveillance Plan for *Listeria monocytogenes* in Food Producing Plants and Retail Stores of Central Italy: Prevalence and Genetic Diversity." *Foods* **10**(8): 1944.

Codex Alimentarius (CAC/GL), (2007). Guidelines on the application of general principles of food hygiene in the control of *Listeria monocytogenes* in foods (No. 61). Rome (Italy): Commission of the Codex Alimentarius. Retrieved on: [Codex Alimentarius CAC/GL 61 - 2007](https://www.codexalimentarius.org/standards-detail.aspx?standard=CAC/GL/61-2007)

COOPER, AL, CARRILLO, CD, DESCHÊNES, MN and BLAIS, BW (2020). "Genomic Markers for Quaternary Ammonium Compound Resistance as a Persistence Indicator for *Listeria monocytogenes* Contamination in Food Manufacturing Environments." *Journal of Food Protection* **84**(3): 389-398.

De Oliveira Mota, J, Boué, G, Prévost, H, Maillet, A, Jaffres, E, Maignien, T, Arnich, N, Sanaa, M and Federighi, M (2021). "Environmental monitoring program to support food microbiological safety and quality in food industries: A scoping review of the research and guidelines." *Food Control* **130**: 108283.

EFSA (European Food Safety Authority), Allende, A, Barre, L, Jacxsens, L, Liebana, E, Messens, W, Sarno, E and da Silva Felicio, MT, 2018. Urgent scientific and technical assistance to provide recommendations for sampling and testing in the processing plants of frozen vegetables aiming at detecting *Listeria monocytogenes*. *EFSA supporting publication* 2018: 15(7):EN-1445. 41 pp. doi: [10.2903/sp.efsa.2018.EN-1445](https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2018.EN-1445).

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), Ricci, A, Allende, A, Bolton, D, Chemaly, M, Davies, R, Fernández Escámez, PS, Girones, R, Herman, L, Koutsoumanis, K, Nørrung, B, Robertson, L, Ru, G, Sanaa, M, Simmons, M, Skandamis, P, Snary, E, Speybroeck, N, Ter Kuile, B, Threlfall, J, Wahlström, H, Takkinen, J, Wagner, M, Arcella, D, Da Silva Felicio, MT, Georgiadis, M, Messens, W and Lindqvist, R, 2018. Scientific Opinion on the *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU. *EFSA Journal* 2018;16(1):5134, 173 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5134>

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), Koutsoumanis, K, Alvarez-Ordóñez, A, Bolton, D, Bover-Cid, S, Chemaly, M, Davies, R, De Cesare, A, Herman, L, Hilbert, F, Lindqvist, R, Nauta, M, Peixe, L, Ru, G, Simmons, M, Skandamis, P, Suffredini, E, Jordan, K, Sampers, I, Wagner, M, Da Silva Felicio, MT, Georgiadis, M, Messens, W, Mosbach-Schulz, O and Allende, A, 2020. Scientific Opinion on the public health risk posed by *Listeria monocytogenes* in frozen fruit and vegetables including herbs, blanched during processing. *EFSA Journal* 2020;18(4):6092, 102 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6092>

EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2021. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *EFSA Journal* 2021;19(2):6406, 286 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6406>

FDA-CFSAN, (2017). Control of *Listeria monocytogenes* in Ready-To-Eat-Foods: Guidance for Industry. Draft Guidance. Retrieved on: [Guidance for Industry \(fda.gov\)](https://www.fda.gov/oc/ohrt/industry-guidance-for-control-of-listeria-monocytogenes-in-ready-to-eat-foods)

Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) Guidance on the application of microbiological criteria for *Listeria monocytogenes* in RTE food. [(accessed on 10 May 2019)];2014 Available online: <http://www.foodstandards.gov.au/code/microbiolimits/Pages/Criteria-for-Listeria-monocytogenes-in-ready-to-eat-foods.aspx>.

Jackson, BR, Tarr, C, Strain, E, Jackson, KA, Conrad, A, Carleton, H, Katz, LS, Stroika, S, Gould, LH, Mody, RK, Silk, BJ, Beal, J, Chen, Y, Timme, R, Doyle, M, Fields, A, Wise, M, Tillman, G, Defibaugh-Chavez, S, Kucerova, Z, Sabol, A, Roache, K, Trees, E, Simmons, M, Wasilenko, J, Kubota, K, Pouseele, H, Klimke, W, Besser, J, Brown, E, Allard, M and Gerner-Smidt, P (2016). "Implementation of Nationwide Real-time Whole-genome Sequencing to Enhance Listeriosis Outbreak Detection and Investigation." *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **63**(3): 380-386.

Katharios-Lanwermeier, S, Rakic-Martinez, M, Elhanafi, D, Ratani, S, Tiedje, JM and Kathariou, S (2012). "Coselection of Cadmium and Benzalkonium Chloride Resistance in Conjugative Transfers from Nonpathogenic *Listeria* spp. to Other *Listeriae*." *Appl Environ Microbiol* **78**(21): 7549-7556.

MAGDOVITZ, BF, GUMMALLA, S, THIPPAREDDI, H and HARRISON, MA (2019). "Evaluating Environmental Monitoring Protocols for *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in Frozen Food Manufacturing Facilities." *Journal of Food Protection* **83**(1): 172-187.

Maury, MM, Bracq-Dieye, H, Huang, L, Vales, G, Lavina, M, Thouvenot, P, Disson, O, Leclercq, A, Brisse, S and Lecuit, M (2019). "Hypervirulent *Listeria monocytogenes* clones' adaption to mammalian gut accounts for their association with dairy products." *Nature Communications* **10**(1): 2488.

Muhterem-Uyar, M, Dalmasso, M, Bolocan, AS, Hernandez, M, Kapetanakou, AE, Kuchta, T, Manios, SG, Melero, B, Minarovičová, J, Nicolau, AI, Rovira, J, Skandamis, PN, Jordan, K, Rodríguez-Lázaro,

D, Stessl, B and Wagner, M (2015). "Environmental sampling for *Listeria monocytogenes* control in food processing facilities reveals three contamination scenarios." *Food Control* **51**: 94-107.

Nielsen, EM, Björkman, JT, Kiil, K, Grant, K, Dallman, T, Painset, A, Amar, C, Roussel, S, Guillier, L, Félix, B, Rotariu, O, Perez-Reche, F, Forbes, K and Strachan, N (2017). "Closing gaps for performing a risk assessment on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat (RTE) foods: activity 3, the comparison of isolates from different compartments along the food chain, and from humans using whole genome sequencing (WGS) analysis." *EFSA Supporting Publications* **14**(2): 1151E.

Nüesch-Inderbilen, M., Bloemberg, G. V., Müller, A., Stevens, M., Cernela, N., Kollöffel, B....Stephan, R. (2021). Listeriosis Caused by Persistence of *Listeria monocytogenes* Serotype 4b Sequence Type 6 in Cheese Production Environment. *Emerging Infectious Diseases*, *27*(1), 284-288.

<https://doi.org/10.3201/eid2701.203266>

Orsi, RH, Bakker, HCd and Wiedmann, M (2011). "*Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics." *International Journal of Medical Microbiology* **301**(2): 79-96.

Simmons, CK and Wiedmann, M (2018). "Identification and classification of sampling sites for pathogen environmental monitoring programs for *Listeria monocytogenes*: Results from an expert elicitation." *Food Microbiology* **75**: 2-17.

Spanu, C and Jordan, K (2020). "*Listeria monocytogenes* environmental sampling program in ready-to-eat processing facilities: A practical approach." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **19**(6): 2843-2861.

Stevens, EL, Timme, R, Brown, EW, Allard, MW, Strain, E, Bunning, K and Musser, S (2017). "The Public Health Impact of a Publically Available, Environmental Database of Microbial Genomes." *Frontiers in Microbiology* **8**(808).

Van Walle, I, Björkman, JT, Cormican, M, Dallman, T, Mossong, J, Moura, A, Pietzka, A, Ruppitsch, W, Takkinen, J and European Listeria, WGStg (2018). "Retrospective validation of whole genome sequencing-enhanced surveillance of listeriosis in Europe, 2010 to 2015." *Euro surveillance : bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* **23**(33): 1700798.

Zoellner, C, Ceres, K, Ghezzi-Kopel, K, Wiedmann, M and Ivanek, R (2018). "Design Elements of *Listeria* Environmental Monitoring Programs in Food Processing Facilities: A Scoping Review of Research and Guidance Materials." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **17**(5): 1156-1171.

9. Anhang

Fallbeispiel 1: "Unraveling the emergence and population diversity of *Listeria monocytogenes* in a newly built meat facility through whole genome sequencing (Alvarez-Molina *et al.*, 2021)

Untersuchungsobjekt	Fleisch-verarbeitender Betrieb
Motivation und Resultat	<ul style="list-style-type: none"> - Umgebungsmonitoring auf <i>L. monocytogenes</i> in einem neu eröffneten Schweinefleisch verarbeitenden Betrieb in Spanien. Vor Betriebseröffnung waren alle Umgebungsproben negativ. - Dauer: 1.5 Jahre - 229 Umgebungsproben, Nachweis von 18 <i>L. monocytogenes</i>-Isolaten - Charakterisierung mittels WGS, Vergleich mit anderen WGS-Datenbanken - Zunahme der Persistenz wurde festgestellt.
Schlussfolgerung	<p>Zu Beginn des Monitorings waren in der Umgebung des neu eröffneten Betriebes keine <i>L. monocytogenes</i> nachweisbar, doch im Laufe der Zeit konnten immer mehr positive Umgebungsproben wie auch verschiedene Sequenztypen (ST) nachgewiesen werden.</p> <p>Von den sechs nachgewiesenen Sequenztypen (ST) konnten acht der 18 isolierten <i>L. monocytogenes</i>-Stämme dem Serotyp 1/2c, Sequenztyp 9 (ST9) zugeordnet werden.</p> <p>Aufgrund der WGS-Daten ist davon auszugehen, dass sich der ST9-Stamm vermehrt hat und persistente Eigenschaften besitzt. Die Massnahmen zur Bekämpfung der <i>L. monocytogenes</i>-Kontamination sind zwingend anzupassen.</p>

Fallbeispiel 2: "El Abuelito Cheese Inc. warned about Listeria 8 months before outbreak" ([Food Safety News 2021](#))

Untersuchungsobjekt	Käserei
Motivation und Resultat	<ul style="list-style-type: none"> - Im Februar 2020 führte die FDA eine Inspektion in einer Käserei in New Jersey durch, dabei entnahm sie auch diverse Proben aus der Umgebung. Zwei Umgebungsproben waren positiv auf nicht pathogene <i>Listeria spp.</i> (<i>L. grayi</i> und <i>L. innocua</i>). Zwei Frischkäseprodukte wurden zurückgerufen, zudem empfahl die Behörde auch auf weitere Produkte dieser Käserei zu verzichten. Im Juni 2020 veröffentlichte die FDA eine «warning letter». Der Betrieb war nun dabei, die von der FDA festgestellten Mängel zu beheben. - Im Februar 2021 wurde ein Listeriose-Ausbruch mit einem Weichkäse aus dieser Käserei in Verbindung gebracht; die besagte Käserei musste daraufhin alle Produkte zurückrufen. Die Produktion im Betrieb wurde gestoppt. - Zehn Personen waren inzwischen erkrankt, neun davon mussten hospitalisiert werden.

Schlussfolgerung	<p>Bei nicht pathogenen <i>Listeria spp.</i>-Befunden aus der Umgebung geht die FDA davon aus, dass die Umgebungsbedingungen im Betrieb auch für <i>L. monocytogenes</i> ideal sind.</p> <p>Da eine <i>L. monocytogenes</i>-Kontamination nicht auszuschliessen war, wurden zwei Frischkäseprodukte zurückgerufen,.</p> <p>Nach acht Monaten wurde ein Rückruf aller Produkte gestartet und die Produktion eingestellt, weil ein Weichkäse dieser Käserei mit einem Listeriose-Ausbruch in Verbindung gebracht werden konnte.</p>
-------------------------	---

Fallbeispiel 3: “Whole genome sequencing uses for foodborne contamination and compliance: Discovery of an emerging contamination event in an ice cream facility using whole genome sequencing” (Allard et al., 2019)

Untersuchungsobjekt	Eiscremehersteller
Motivation und Resultat	<ul style="list-style-type: none"> - Im August 2017 führte die FDA in einem Lebensmittelbetrieb, welcher Eiscreme herstellt, eine amtliche Probenahmen von der Produktionsumgebung durch. Die nachgewiesenen <i>L. monocytogenes</i>-Umgebungsisolate wurden mittels WGS charakterisiert und in die GenomeTrakr-Datenbank abgelegt. - Im September 2018 kontaktierte das «Centers for Disease Control and Prevention (CDC)» das «Florida Department of Health», weil drei Patientenisolate von Listeriose-Fällen (zwei aus dem Jahr 2013 und eines von 2018) mit den Umgebungsisolaten des oben genannten Eiscremeherstellers übereinstimmen. - Die FDA führte im Oktober 2018 erneut ein Umgebungsmonitoring beim besagten Eiscremehersteller durch. Auch dieses Mal waren <i>L. monocytogenes</i>-positive Umgebungsproben zu verzeichnen. Die WGS-Daten der Isolate der Umgebungsproben stimmten mit denjenigen der Patientenisolate überein. - Es folge ein Rückruf aller Produkte, welche zwischen August 2017 und Oktober 2018 hergestellt worden waren. Der Betrieb musste geschlossen werden.
Schlussfolgerungen	Die Autoren dieser Studie empfehlen, neu erfasste WGS-Daten von <i>L. monocytogenes</i> -positiven Umgebungsisolaten jeweils mit (mindestens) neueren Daten von klinischen <i>L. monocytogenes</i> -Isolaten zu vergleichen, um Listeriose-Ausbrüche möglichst früh zu erkennen und weitere Fälle von Listeriose zu verhindern.

Fallbeispiel 4: "Listeriosis Caused by Persistence of *Listeria monocytogenes* Serotype 4b Sequence Type 6 in Cheese Production Environment" (Nüesch-Inderbinen *et. al.*, 2021)

Untersuchungsobjekt	Käserei
Motivation und Resultat	<ul style="list-style-type: none"> - Im Jahr 2020 ereignete sich ein schweizweiter Ausbruch von Listeriose in Verbindung mit einem kontaminierten Weichkäse. - Die Patientenisolat wurden mittels WGS charakterisiert. 22 <i>L. monocytogenes</i>-Stämme konnten einem engen Cluster zugeordnet werden. Ein weiteres Patientenisolat wurde jedoch mangels epidemiologischer Daten mit keinem Ausbruch in Verbindung gebracht. - Die Käserei informierte im April 2020 die zuständigen Behörden über einen <i>L. monocytogenes</i>-Nachweis in einem Weichkäse (Brie), hergestellt aus pasteurisierter Milch. - Mit Hilfe der WGS-Daten konnte das <i>L. monocytogenes</i>-Isolat aus dem kontaminierten Produkt mit den Patientenisolaten in Verbindung gebracht werden. - Im anschliessend durchgeführten Umgebungsmonitoring im Produktionsbetrieb konnte in 11 (22 %) der 50 Umgebungsproben <i>L. monocytogenes</i> nachgewiesen werden. Mittels WGS konnte aufgezeigt werden, dass derselbe <i>L. monocytogenes</i>-Stamm auch im Weichkäse nachgewiesen worden war. - Die Produktion wurde eingestellt und die Produkte zurückgerufen. - 34 Krankheitsfälle konnten vom Labor bestätigt werden, zehn Personen verstarben.
Schlussfolgerungen	<p>Der Listeriose-Ausbruch von 2020 konnte mit Hilfe von WGS-Daten aufgeklärt werden. Auch konnte dieser nachgewiesene <i>L. monocytogenes</i>-Stamm mit Serotyp 4b, Sequenztyp 6 mit un- aufgeklärten Listeriose-Fällen aus dem Jahre 2018 in Verbindung gebracht werden.</p> <p>Gemäss der Autorin sollten routinemässige Lebensmittelsicherheitskontrollen sowohl die Beprobung des Endproduktes als auch die der verwendeten Ausrüstungen und der Produktionsumgebung beinhalten.</p> <p><i>L. monocytogenes</i>-positive Umgebungsproben sollten standardmässig mittels WGS charakterisiert werden, um potentielle Kreuzkontaminationen mit Lebensmitteln frühzeitig erkennen zu können. Das Risiko an Listeriose zu erkranken kann dadurch vermindert werden.</p>

Fallbeispiel 5: “Intensive Environmental Surveillance Plan for *Listeria monocytogenes* in Food Producing Plants and Retail Stores of Central Italy: Prevalence and Genetic Diversity” (Centorotola *et al.*, 2021)

Untersuchungsobjekte	Lebensmittelbetriebe, die genussfertige Lebensmittel herstellen und Lebensmittelgeschäfte
Motivation und Resultat	<ul style="list-style-type: none"> - In Mittelitalien wurden im Nachgang zu einem Listeriose-Ausbruch (2015/2016) im Zusammenhang mit Schweinskopfsülze die Verarbeitungsbereiche von 41 Herstellerbetrieben genussfertiger Lebensmittel sowie Umgebungsproben von 45 Lebensmittelgeschäften auf <i>L. monocytogenes</i> untersucht mit dem Ziel, sich ein Bild über den Kontaminationsgrad der Betriebe zu verschaffen und die molekularen Eigenschaften dieser Stämme zu analysieren. - Von 1217 Proben waren 12% der Hersteller-Umgebungsproben und 7.5 % der Umgebungsproben der Lebensmittelgeschäfte auf <i>L. monocytogenes</i> positiv. - Charakterisierung der Umgebungsisolat mittels WGS. Vergleich aller erfassten WGS-Daten.
Schlussfolgerungen	Persistente Stämme waren sowohl in Bereichen mit als auch ohne Lebensmittelkontakt nachzuweisen. Die betroffenen Betriebe wurden nochmals beprobt und allenfalls bei der Festlegung weiterer Massnahmen unterstützt.

Fallbeispiel 6: Environmental sampling for *Listeria monocytogenes* control in food processing facilities reveals three contamination scenarios” (Muhterem-Uyar *et al.*, 2015)

Untersuchungsobjekte	Fleisch-verarbeitende Betriebe und Milch-verarbeitende Betriebe (Hofverarbeiter und industrielle Betriebe)
Motivation und Resultat	<ul style="list-style-type: none"> - Durchführung eines Umgebungsmonitorings auf <i>L. monocytogenes</i> in sechs europäischen Ländern zwischen März 2013 und März 2014 - 12 Lebensmittelbetriebe (vier Hofverarbeiter, fünf industrielle Milchverarbeitungsbetriebe und drei Fleisch-verarbeitenden Betriebe) wurden untersucht. Sechs der 12 Betriebe wiesen zu Studienbeginn keine Umgebungskontaminationen mit <i>L. monocytogenes</i> auf. - 2242 Umgebungsproben wurden auf <i>L. monocytogenes</i> untersucht. Die Gesamthäufigkeit der <i>L. monocytogenes</i>-positiven Befunde betrug 12.6 % (n = 282; 8.8 % in dairy and 32 % in meat plants), wobei es sich bei 3.5 % (n = 78) um Oberflächen-Befunde mit Lebensmittelkontakt (sog. Food Contact Surfaces, kurz FCS) und bei 9.1 % (n = 204) um Oberflächen-Befunde ohne Lebensmittelkontakt (sog. Non FCS, kurz NFCS) handelte. - Nachweis der <i>L. monocytogenes</i>-Isolate erfolgte mittels PCR - <i>L. monocytogenes</i> wurden in allen Betrieben mind. einmal nachgewiesen.
Schlussfolgerungen	Gemäss Autoren, zeigen die Studiendaten auf, dass <i>L. monocytogenes</i> ein häufig anzutreffender Keim in den Produktionsumgebungen der untersuchten europäischen Betriebe ist und somit ein «consistent cross-contamination risk» besteht.

Fallbeispiel 7: «Phenotypic and molecular typing of *Listeria monocytogenes* isolated from the processing environment and products of a sandwich-producing plant» (Blatter *et al.*, 2010)

Untersuchungsobjekt	Herstellerbetrieb von Sandwiches (Convenience-Produkt)
Motivation und Resultat	<ul style="list-style-type: none"> - 12-monatiges <i>L. monocytogenes</i>-Monitoring in Umgebung, Sandwichzutaten und Endprodukten eines Schweizer Herstellerbetriebes von Sandwiches. - <i>L. monocytogenes</i> wurde in 70 (3.5 %) der 2028 Wischproben aus der Umgebung und 16 (7.4 %) der 217 Proben aus Sandwiches und deren Zutaten kulturell nachgewiesen. Von den 86 isolierten <i>L. monocytogenes</i>-Stämmen konnten 93% dem Serotyp 1/2a zugeordnet werden. 67 (77.9 %) der positiven Befunde konnten mittels «repetitive element PCR» (Rep PCR) und PFGE dem Genotyp (a, A) zugewiesen werden. Diverse Stämme dieses Genotyps persistierten mehr als neun Monate im Verarbeitungsbereich (vor allem Schneidemaschinen und Förderbändern), wurden aber auch immer wieder in Sandwiches und Zutaten davon nachgewiesen.
Schlussfolgerungen	Nach neun Monaten wurden die Reinigungs- und Desinfektionsvorschriften des Betriebes überarbeitet. <i>L. monocytogenes</i> konnte danach weder im Verarbeitungsbereich noch in Sandwiches nachgewiesen werden.